

Der Atmungskoeffizient des Bullenspermas
in Beziehung
zur Befruchtungsfähigkeit

Hans Aubele

Aus dem Institut für Geburtshilfe und Klinik zur Behandlung von
Außenfällen der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. W. B a i e r

Der Atmungskoeffizient des Bullenspermas

in Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Hans Aubele
aus
Degenfeld

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. W. B a i e r

Tag der Promotion: 25. Juli 1958

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung und Problemstellung	1
II. Besprechung der Literatur	2
1. Der anaerobe Samenstoffwechsel	2
2. Der aerobe Stoffwechsel des Samens	3
3. Glykolyse und Befruchtungsfähigkeit	5
4. Atmung und Befruchtungsfähigkeit	7
III. Eigene Untersuchungen	12
1. Material und Methodik	12
2. Versuchsergebnisse	14
IV. Diskussion	19
V. Zusammenfassung	21
Literaturverzeichnis	23
Lebenslauf	30



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung und Problemstellung

Seit der Einführung der künstlichen Besamung besonders beim Rind erhielt die Erforschung der Morphologie und Physiologie des Samens einen besonderen Antriebs.

Wenn beim Natursprung das Vattertier schon "die halbe" Herde ausmacht, so ist bei der künstlichen Besamung das einzelne Vattertier in unverhältnismäßig großem Ausmaß an der Erzeugung der Nachkommenschaft mitbestimmend.

Diese Tatsache veranlaßte Wissenschaft und Praxis seit Jahren, ihr besonderes Augenmerk auf die Selektion derjenigen Vattertiere zu richten, die in der K.B. eingesetzt werden, wobei auch der Überprüfung des Samens wichtige Bedeutung zukommt. Die Glykolyse und die Atmung sind signifikante Prozesse für die Lebensintensität des Spermias.

In vorliegender Arbeit soll unter benannten Gesichtspunkten untersucht werden, inwieweit eine Beziehung besteht zwischen dem Atmungskoeffizienten des Bullenspermias, d.h. dem Sauerstoffverbrauch pro 10^9 Spermien und der Befruchtungsfähigkeit.

II. Besprechung der Literatur

1. Der anaerobe Samenstoffwechsel

Als erster fand Yamane 1933 (48), daß es sich bei dem durch Hefe fermentierbaren Zucker des Spermas um Fruktose handeln müsse. T. Mann (31) wies diesen Zucker mittels Methyl-Phenylfruktosazon nach. Er erkannte Fruktose als einen normalen Bestandteil des Samenplasmas. Der Fruktosegehalt schwankte je nach Tierart und ebenso innerhalb einer Tierart. Der gefundene Höchstwert betrug 1 g pro 100 ml beim Bullen. Da in Samenproben, die direkt dem Nebenhoden entnommen worden sind, keine Fruktose nachzuweisen war, wurde angenommen, daß der Zucker von den akzessorischen Geschlechtsdrüsen stammt. Die Funktion der Fruktose schien darin zu bestehen, die Spermien mit glykolyisierbaren Substanzen zu versorgen, nachdem nachgewiesen worden war, daß der Fruktosegehalt bei der Aufbewahrung von Sperma fortwährend abnahm. J. Anderson (1) bestimmte den Zuckergehalt des Bullensamen und dessen Reduktion während der Aufbewahrung von Sperma. Der durchschnittliche Zuckergehalt lag bei 470,5 mg % und war unabhängig vom Volumen des Ejakulates, der Spermiedichte, der Bewegung der Spermien am Anfang oder der Bewegung der Spermien während der Aufbewahrung. Je höher der Zuckergehalt, desto niedriger war der P_{50} -Wert und desto besser war die Pufferkapazität. Die mittlere Reduktion im Zuckergehalt nach 24 Stunden im unverdünnten Samen bei 10° Celsius war 23,85 %. Je größer die ursprüngliche Bewegung und die Dichte der Spermien, desto größer war die Reduktion im Zuckergehalt. Die Proben mit der geringsten Zuckerabnahme behielten die bestbewegungsfähigkeit, jedoch war diese Beziehung nicht deutlich genug.

T. Mann (33) konnte feststellen, daß die Fruktolyse von der Zahl der beweglichen Spermien abhängig ist und daß bei O_2 -Mangel der Samen von der Fruktolyse als der Hauptquelle metabolischer Energie abhängig ist. Bei diesem Stoffwechsel wurde Milchsäure nachgewiesen. Die Beziehung zwischen Fruktolyse und Beweglichkeit der Spermien war sehr auffallend.

T. Mann und C. Lutwak-Mann (34) hielten die Fruktolyse als die wichtigste Art der Energiegewinnung in Säugetiersperma, sowohl unter aeroben wie unter anaeroben Verhältnissen. Wurde die Fruktolyse durch NaF abgeschwächt, so verminderte sich die Bewegungsfähigkeit der Spermien.

Der anaerobe Abbau von Glukose durch Bullenspermatozoen wurde von R.I. Flipse (25), T.I. Flipse und I.O. Almquist (26) mit Glukose C^{14} studiert. Der größte Teil der Radioaktivität konnte in der Milchsäure nachgewiesen werden, obglei

ein gewisser Teil auch in CO_2 und flüchtigen Säuren gefunden wurde. Die Beziehungen zwischen den spezifischen Aktivitäten der Komponenten zeigten, daß die Spermatozoen wahrscheinlich Glukose in Milchsäure umwandelten und daß die Milchsäure weiterhin zu CO_2 und anderen Stoffen umgebaut wurde. Daß Spermien auch andere Zuckerarten wie Glukose und Maltose glykolysieren können, konnten G.W.E. Plaut und H.A. Lardy (40) nachweisen, indem sie ejakuliertes Sperma mit Salzen gewaschen haben.

M. Brochard (15) machte die Feststellung, daß eine Zugabe von Adrenalin und Nor-Adrenalin zu frischem Bullensamen unter aeroben Bedingungen die Glykolyse verhinderte.

Daß auch die Temperatur einen maßgebenden Einfluß auf die Intensität des Spermastoffwechsels ausübt, wurde von A.W. Blackshaw, G.W. Salisbury und N.L. Van Demark (7) nachgewiesen. Sowohl die Glykolyse als auch die Atmung ungewaschener Bullenspermien in 0,9%iger NaCl- oder Phosphatverdünnung wurden bei 37°, 21° und 5° Celsius bestimmt. Während die aerobe Glykolyse in der Temperaturspanne von 37 - 21° Celsius rascher zurückging als zwischen 21 und 5° Celsius, war die Atmungsintensität zwischen 21 und 5° Celsius deutlich abgeschwächt gegenüber der Temperaturspanne zwischen 37 und 21° Celsius.

Eine bemerkenswerte Abhängigkeit der Fruktolyse von der Spermienkonzentration wurde von A. Roy, S. Bhattacharya, S.N. Luktuke und P. Bhattacharya (44) beim Sperma des Schafbocks gefunden. Die Spermienkonzentration stand in positiver Beziehung zur Fruktolyse, aber in negativer zum Fruktosegehalt.

2. Der aerobe Stoffwechsel des Samens

Wie die Glykolyse, so stellt auch die Atmung einen bedeutsamen Stoffwechselvorgang des Spermas dar, bei dem die für die Lebensvorgänge der Spermien notwendige Energie frei wird. Die Feststellung der Atmung und der Atmungsintensität beim Sperma wurde auf verschiedene Weise durchgeführt.

N.P. Shergin (52) bediente sich der Methylenblau-Methode, um die Tiefe des Eindringens von O_2 in den Samen und die Atmungsintensität zu messen. Methylenblau wird durch die Spermatozoen reduziert und infolgedessen entfärbt. Die O_2 -Aufnahme durch den Samen wurde mit dem Warburg-Apparat unter wechselnden Bedingungen registriert. Die Intensität der Atmung war von der Spermienkonzentration abhängig. Auch die Temperatur war für die Atmungsintensi-

tät ein wichtiger Faktor; so war bei 20° Celsius und 2 - 2 1/2 Stunden nach der Ejakulation die Intensität am größten. Ein Anstieg der Temperatur um 10° 20° C erhöhte die Atmung um das Doppelte bis Dreifache; jedoch bei Körpertemperatur wurde die Atmung stark gebremst.

V.K. Milovanov (37) studierte das Verhalten der Spermien verschiedener Tierarten in verschiedenen Verdünnungsmitteln nach dem Durchströmenlassen verschiedener Gase durch das Sperma. In Luft oder O_2 blieb die Bewegung der Spermien am längsten erhalten. In Stickstoff- oder Wasserstoffatmosphäre dagegen verloren die Spermien ohne Glykosezusatz schnell die Bewegungsfähigkeit. In ähnlicher Weise wie Milovanov (37) untersuchten N.L. van Demark, G.W. Salisbury und R.W. Bratton (56 und 57) die Wirkung verschiedener Gase auf die Bewegungsfähigkeit der Spermien. Unter O_2 -Einwirkung war bei jeder relativen Sauerstoffzunahme eine langsame Abnahme in der prozentualen Beweglichkeit der Spermien zu verzeichnen. Wurde aber Katalase zugegeben, so stieg der Prozentsatz der beweglichen Spermien.

I.G. White (59) untersuchte die Wirkung des Auswaschens auf die Bewegungsfähigkeit und den Stoffwechsel des Spermas verschiedener Tierarten. Zwar hatte wiederholtes Auswaschen und Verdünnen keine Wirkung auf den O_2 -Verbrauch, jedoch wurde die Milchsäureproduktion deutlich eingeschränkt.

Daß auch die Verdünnung des Samens mit Eidotterphosphat eine Steigerung der O_2 -Aufnahme mit sich bringt, haben M.W.H. Bishop und G.W. Salisbury (45) festgestellt. M. Magsood (35) beobachtete einen gesteigerten O_2 -Verbrauch der Spermien, nachdem 0,5 - 2 g D,L-Thyroxin zu verdünntem Samen mit einer Mindestkonzentration von 700 000 pro mm³ zugegeben wurde. Auf reinen Samen hatte Thyroxin eine stärkere Wirkung als auf Samenplasma oder gewaschene Spermatozoen. Dagegen hatte Thyroxin keine Wirkung auf Ebersperma und eine unterschiedliche Wirkung auf Schafbocksperma.

Entsprechende Beobachtungen machten A.B. Schultze und H.P. Davis (49). Die Zugabe von 7 D,L-Thyroxin zu 100 ml Samen, der mit Phosphatpuffer verdünnt war, beeinflusste den O_2 -Verbrauch nicht, wenn die Originalsamenprobe weniger als 800 000 Spermien pro mm³ enthielt, vermehrte jedoch den Verbrauch an O_2 deutlich und kontinuierlich, als die Spermienkonzentration von 800 000 auf 1 400 000 pro mm³ stieg. Die Autoren nahmen nicht an, daß der vermehrte O_2 -Verbrauch der Anzahl der Spermien selber zu verdanken wäre. Eine signifikante Beziehung zwischen dem O_2 -Verbrauch pro 10⁹ Spermien mit und ohne Eidotter wurde von C. Romijn (43) gefunden. Die O_2 -Aufnahme stieg mit zunehmender Zeit und zwar deutlicher ohne Eidotter als mit Eidotter. Keine Beziehung wurde beobachtet zwischen der Dichte des Ejakulates und dem O_2 -Verbrauch pro 10⁹ Zel

A. Roy, S. Bhattacharya, S.N. Luktuke und P. Bhattacharya (44) konnten eine negative Beziehung feststellen zwischen der Spermienkonzentration und der Methylenblau-Reduktionszeit.

Eine die Atmung und die Bewegungsfähigkeit der Spermien hemmende Wirkung von H_2O_2 haben J. Tosic und A. Walton (53, 54, 55) gefunden. H_2O_2 wurde während des aeroben Stoffwechsels von gewaschenen Bullenspermien in Eidotterverdünnung gebildet. Die hemmende Wirkung wurde durch Katalase und Peroxydase aufgehoben.

3. Glykolyse und Befruchtungsfähigkeit

Nach T. Mann (32) zeigt ein hoher Fruktosegehalt des Samens in der Regel eine hohe Spermienkonzentration und eine gute Befruchtungsfähigkeit an. Die Bestimmung des Fruktolyse-Index, das ist die Menge Fruktose in mg, die von 10^9 Spermien in einer Stunde bei $37^\circ C$ verbraucht wird, kann nach den Angaben des Autors zur Bestimmung der Samenqualität herangezogen werden.

Dagegen fanden C. Branton, D. D'Arensbourg und I.E. Johnston (9) ein umgekehrtes Verhältnis zwischen Fruktosegehalt und Spermienkonzentration.

M.H. Ehlers, F.H. Flerchinger und R.E. Erb (19) konnten keine signifikante Abhängigkeit feststellen von dem ursprünglichen Gehalt an Fruktose und Zitronensäure und der "Non-return-rate".

M.W.H. Bishop, R.C. Campbell, I.L. Hancock und A. Walton (4) verglichen verschiedene Samencharakteristika mit der Befruchtungsfähigkeit. Obgleich die Fruktolyse eine enge Beziehung zu der Anzahl der lebenden Spermien zeigte, so nahm doch die Fruktolyse mit zunehmender Spermienkonzentration relativ ab. Im Ganzen gesehen konnte ein bemerkenswertes umgekehrtes Verhältnis zwischen Fruchtbarkeit und der Zahl der toten Spermien und ein direktes Verhältnis zwischen Fruchtbarkeit und Resistenz gegen Temperaturschock, Alter des Bullen, Volumen des Ejakulates und Fruktolyse gefunden werden. Ebenfalls Beobachtungen über den Gehalt an Fruktose, über die Glykolyse und deren Beziehungen zur Befruchtungsfähigkeit machten T. Bonadonna, E. Berg, L. Olgiati und G.C. Pozzi (8). Es wurden positive Beziehungen zwischen Befruchtungsfähigkeit, Libido und ursprünglichem Fruktosegehalt, aber keine Beziehung zur Spermienkonzentration gefunden.

G.W. Salsbury (45) untersuchte die Glykolyse, die Lebensfähigkeit und Befruchtungsfähigkeit von Bullensperma und die Abhängigkeit dieser Kriterien

von der Spermienkonzentration. Dabei zeigten Samenproben, nach 2 - 6-tägiger Aufbewahrung in Verdünnung mit Eidotter-Citrat-Puffer eine herabgesetzte Bewegungsfähigkeit, jedoch keinen bemerkenswerten Verlust an Befruchtungsfähigkeit selbst in Verdünnung bis 1 : 100.

Zwischen der Fruchtbarkeit und der Zahl der inseminierten Spermien fanden R.W. Bratton, R.H. Foote und C.R. Henderson (14) folgende Beziehung: Bei Spermienkonzentration von

$14,3 \times 10^6$	betrug die "Non-return" 70,5,
$9,5 \times 10^6$ und	70,9 und
$4,7 \times 10^6$	66,7 %.

C. Branton und Mitarbeiter (11) fanden, daß Samenproben mit einer Konzentration von 500 Millionen pro ml ebenso gute Befruchtungsergebnisse ergaben wie Proben von höheren Konzentrationen, vorausgesetzt, daß der Samen auf der Basis der Zahl der beweglichen Spermien pro ml eingestellt ist. Daß der Stoffwechsel der Spermien auch durch antibakterielle Stoffe beeinflußt werden kann, zeigten C. Branton und W.B. Prather (10). Eine Kombination von Streptomycin und Penicillin in Eidotterzitratverdünnung drückten den Spermatozoenstoffwechsel fast so stark wie Sulfonamide und ergaben die besten Lebensfähigkeiten im Vergleich mit anderen Verdünnungen.

I.P. Mixner, R.E. Mather und M. Freund (39) vertraten die Ansicht, daß verschiedene Methoden zur Bestimmung der fruktolytischen Aktivität zum Vorhersagen der Befruchtungsfähigkeit geeignet seien, so die Bestimmung des Frukto-lysekoeffizienten, des Maximal-Fruktoseverbrauches und des Frukto-lyseindex. Ebenfalls eine deutliche Beziehung zwischen dem Frukto-lyseindex und der Befruchtungsfähigkeit konnte von F.X. Cassner und Mitarbeitern (27) gefunden werden.

R.E. Erb und Mitarbeiter (22) konnten Beziehungen zwischen ursprünglichem Fruktosegehalt, Fruktoseverbrauch während der Inkubation, Spermienkonzentration und der Befruchtungsfähigkeit des Samens finden. Eine Versuchsdauer von 10 Minuten ergab, daß der Fruktoseverbrauch direkt proportional war zur Zahl der Spermien und die Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit, besonders für Samen mit überdurchschnittlicher Konzentration, groß war.

Bei der Bestimmung des Fruktoseverbrauches der Bullenspermien und der "Non-return" fanden M.L. Hopwood, E.R. Rutherford und F.X. Cassner (29), daß der Fruktoseverlust des Samenplasmas fast direkt proportional war zu der Spermienkonzentration, jedoch bei hohen Spermienkonzentrationen der Fruktoseverbrauch

pro Spermium abnahm. Der Fruktolyseindex zeigte konsequent eine große Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit und ist nach Ansicht der Autoren durchaus geeignet, die Befruchtungsfähigkeit abzuschätzen.

M. Schmidt und H. Steger (48) konnten ebenfalls signifikante Beziehungen feststellen zwischen dem Fruktoseverbrauch und der Spermienzahl, jedoch nur während der ersten Stunde nach der Spermagewinnung. Niedrige Spermienkonzentrationen hatten einen relativ höheren Stoffumsatz im Verhältnis zu hohen Konzentrationen. Es konnten deutliche zwischen-den-Bullen-Korrelationen zwischen Fruktolyseindex und Fruchtbarkeit festgestellt werden.

Wie während der Inkubation des Spermias sich ansammelnde Milchsäure und deren Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit wurde von F.H. Flerchinger und Mitarbeitern (23) untersucht. Dabei wurden auf einer Zwischen-den-Bullen-Basis sehr signifikante positive Beziehungen beobachtet zwischen dem Gehalt an Milchsäure nach 1 Stunde und deren Zunahme, der Spermienkonzentration, der Bewegungsfähigkeit und der Fruchtbarkeit; negative Beziehungen zwischen Fruktosegehalt nach der Inkubation, der Resazurinreduktionszeit, der Beweglichkeitsabnahme und der Fruchtbarkeit bestanden ebenfalls. Jedoch wurde keine Beziehung gefunden für die verschiedenen Proben der einzelnen Bullen.

Eine bedeutsame Abhängigkeit der durch die Inkubation bewirkten Änderung des P_h -Wertes von den anderen Samencharakteristika fanden I.T. Reid, G.M. Ward und R.L. Salisbury (42). Dieser Wechsel im P_h -Wert war abhängig von der Spermienkonzentration der ursprünglichen Bewegungsfähigkeit und der Lebensfähigkeit der Spermien und wurde als ein indirektes Maß für den allgemeinen Samenstoffwechsel genommen. D.R. Malrose (36) konnte dagegen nur bei 3 von insgesamt 13 Bullen eine signifikante Beziehung zwischen Befruchtungsfähigkeit und Fruktolyseindex finden. Ein sehr fruchtbarer Bulle, in dessen Samen bei der Inkubation schnell die Beweglichkeit der Spermien abnahm, hatte einen niederen Fruktolyse-Index.

4. Atmung und Befruchtungsfähigkeit

Mit Hilfe einer volumetrischen Methode, wobei Kaliumjodat benützt wurde und einer Farbe-Reduktionsmethode, analysierten I.T. Reid und Mitarbeiter (41) Samenproben. Dabei konnten keine engeren Beziehungen zwischen der Reduktionsfähigkeit des Samens und verschiedenen anderen Samencharakteristika gefunden werden. Am größten schien der Zusammenhang zwischen Spermatozoenkonzentration und Reduktionsfähigkeit des Samens zu sein und zwar bei beiden

Methoden. I.P. Mixner (38) studierte die Vitalität der Bullenspermien mit Hilfe von Triphenyltetrazoliumchlorid (T.T.C.), welches durch frischen Bullensamen zu Triphenyl-formazan reduziert wird (Farbumschlag farblos - rot). Abgetötete Spermien konnten zwar auch reduzieren, jedoch nicht in demselben Ausmaße wie lebende. Da aber eine längere Einwirkung von T.T.C. auf die Spermien toxisch wirkte, war seine Verwendung zum Messen der Lebensfähigkeit nicht möglich. Ebenfalls T.T.C. als Redoxindikator verwendete K. Kaemmerer (30). Der Autor war der Ansicht, daß das 1 %-ige T.T.C. bei geringer Toxizität gegenüber Sperma als Hilfsmittel zur Spermagütebeurteilung verwendet werden kann, fügte aber hinzu, daß das Verfahren in technischer Hinsicht noch der Weiterentwicklung bedürfe.

Die Resazurin-Reduktionszeit als Indikator für die Befruchtungsfähigkeit benutzten R.E. Erb und M.H. Ehlers (20). 11 mg Resazurin wurden in 20 ml Aqua dest. gelöst und 1/10 ml dieser Lösung zu 0,2 ml unverdünntem Samen bei 45° Celsius gegeben und die Zeit gemessen, die notwendig war, bis Rosa- und Weißfärbung eintrat. Die Beziehung der Rosa- und Weißfärbung zur Lebensfähigkeit, ursprünglicher Bewegungsfähigkeit und zur Konzentration des Spermas war groß. Einer modifizierten Resazurin-Reduktionsprobe bedienten sich R.E. Erb und Mitarbeiter (21). Die Temperatur wurde auf 37,5° herabgesetzt. Der Samen wurde an einer Station mit M/7 Phosphatpuffer zu 750 000 Spermien pro mm³ standardisiert, wogegen die 2. Station die Reduktionszeit für 0,2 ml frischen, mit M/7 Phosphatpuffer 1 : 1,5 verdünnten Samen determinierte. Alle Reduktionsproben wurden innerhalb von 20 Minuten nach der Samengewinnung begonnen und zeigten deutliche Beziehungen zu den "Non-return"-Ergebnissen. Mit Hilfe des Methylenblau-Reduktionstestes versuchten eine Anzahl von Autoren, die Befruchtungsfähigkeit des Spermas zu ermitteln. A. Corrias (17) stellt erhebliche Unterschiede bei der Bestimmung der Reduktionszeiten von Spermaproben fest. Die Reduktionszeiten schwankten zwischen 2 1/2 und 40 Minuten. Der Autor vermutete, daß eine bestimmte Beziehung zwischen der Befruchtungsfähigkeit und der Reduktionszeit bestünde, vorausgesetzt, daß letztere während der aufeinanderfolgenden Versuche an Samenproben eines einzelnen Bullen annähernd konstant bleibt. Die Reduktionszeiten für Samen, die als sehr gut klassifiziert wurden, (festgelegt nach Beweglichkeit, Besamungsindex usw.) lagen bei 2,5 bis 5 Minuten.

Entsprechende Feststellungen konnte I. Fåser (24) machen. Bei einer guten Samenqualität wurde eine bestimmte Menge Methylenblau schneller reduziert als bei durchschnittlichen oder schlechten Proben. Die Reduktionszeiten unterlagen erheblichen Schwankungen. K. Schmidt (47) verwendete an zwei verschiede

den Besamungsstationen den Methylenblau-Reduktionstest zur Ermittlung der Befruchtungsfähigkeit. Während an der einen Station keine Beziehung zwischen Reduktionszeit und Befruchtungsfähigkeit gefunden werden konnte, war an der anderen Station eine sehr deutliche Beziehung festzustellen. Eine sehr gute Beziehung zwischen der Spermadichte und der Methylenblau-Reduktionszeit fand H. Schindler (46). Samenproben mit einer sehr kurzen Reduktionszeit behielten die längste Befruchtungsfähigkeit. Über die relative Brauchbarkeit verschiedener Laboratoriumsteste zur Vorhersage der Befruchtungsfähigkeit des Bullspermias berichten W. Bratton und Mitarbeiter (13). Die Autoren erhielten statistisch bedeutsame lineare Beziehungen zwischen der Befruchtungsfähigkeit von Ejakulaten, die 1 : 100 bis 1 : 300 verdünnt worden waren

- a) der Spermienkonzentration im Ejakulat,
- b) dem Prozentsatz der beweglichen Spermien,
- c) der Methylenblau-Reduktionszeit,
- d) dem Wechsel in P_h , sowie der O_2 -Aufnahme bei $37^\circ C$.

durchschnittliche "Non-return" nach 60 bis 90 Tagen bei 1 : 100 verdünnten Samen betrug 56,6 und bei 1 : 300 verdünntem Samen 52,8 %. Ganz entsprechende Untersuchungen machten I.P. Buckner und E.L. Willett (16). Die einzigen Beziehungen, die gefunden werden konnten, waren jene zwischen dem Nichtzurückkommen und

- a) der Motilität der Spermien nach der Inkubation bei $38^\circ C$ in Eidotterzitrat und Antibiotikazusatz,
- b) der Kombination von Methylenblau-Reduktionszeit und der ursprünglichen Motilität.

Pranton und Mitarbeiter (12), die den Zusammenhang von verschiedenen Spermialqualitätsproben mit der Befruchtungsfähigkeit untersuchten, kamen zu folgenden Ergebnissen:

- a) Eine ursprüngliche Vorwärtsbewegung von mindestens 50 % bei einer Konzentration von mindestens 500 Millionen pro ml muß verlangt werden.
- b) Die Zeit bei der modifizierten Methylenblau-Reduktionsprobe, bei der 300 Millionen Spermien pro ml verwendet werden, sollte 9 Minuten nicht überschreiten.

die Wirkung des verzögerten Verdünnens und Kühlens auf die Qualität des Bullspermias zu studieren, gebrauchten H.W. Anderson und D.M. Seath (2) ebenfalls den Methylenblau-Reduktionstest, wobei gefunden wurde, daß die unmittel-

bare Verarbeitung des Samens nach der Gewinnung anzuschreiben sei. Sowohl verzögerte Verdünnung wie verzögerte Kühlung wirken sich nachteilig aus.

Nach ähnlichen Untersuchungen wie sie (12) durchführten, konnte I.N. Cummings (18) folgende Feststellungen machen. Die Befruchtungsfähigkeit des Spermas konnte in den meisten Fällen sehr genau mit folgender Kombination von Tests bestimmt werden:

1. Beweglichkeit in frischen Samen,
2. Spermienkonzentration
3. Beweglichkeit nach 24 Stunden
4. Prozentsatz lebender und toter Spermien nach 24 Stunden
5. Atmungsintensität nach 24 Stunden
6. Gehalt an morphologisch abnormen Spermien in frischem Samen.

Was den Wert der einzelnen Tests anbetraf, so wurde der Bestimmung der Bewegungsfähigkeit am meisten Bedeutung zugemessen. Auch M.W.H. Bishop und I.K. Hancock (5), die jeweils 11 verschiedene Tests anwandten, vermuteten, daß die Bestimmung der Zahl und Prozentzahl der lebenden Spermien und deren physikalische Aktivität zur Ermittlung der Befruchtungsfähigkeit am geeignetsten sei. Ausgehend von der Bestimmung der Atmungsintensität des Bullenspermas fanden D. Gosh und Mitarbeiter (28), daß eine signifikante Beziehung besteht zwischen der Befruchtungsfähigkeit und dem Verhältnis $\frac{O_2\text{-Wert (in mm}^3\text{)}}{\%\text{-Beweglichkeit}}$

J. Tosic und A. Walton (54) bestimmten die O_2 -Aufnahme des Bullenspermas mit Hilfe des Barcroft-Manometers. Der O_2 -Verbrauch von verdünntem Samen stieg mit der Spermiedichte, jedoch schneller, als die Zunahme der Spermienzahl. A.B. Schultze und H.P. Davis (50) beobachteten eine um 6 - 7 % höher liegende Befruchtungsfähigkeit gegenüber unbehandeltem Samen, nachdem D,L-Thyroxin zu mit Eidotterphosphatpuffer verdünntem Samen gegeben wurde. Nur beim Samen eines einzigen Bullen erwies sich Thyroxin als nachteilig. Durch Zugabe von Katalase zu Zitratdotterverdünnungen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Beweglichkeit der Spermien und in der Befruchtungsfähigkeit erzielt werden (Van Demark und Mitarbeiter (58)). A.B. Schultze und D. Mahler (51) beobachteten eine vermehrte Atmung des Bullenspermas, wenn niedrige Konzentrationen von Natrium-Arsenit zu Phosphatpuffer gegeben wurden, jedoch eine verminderte Atmung durch hohe Konzentrationen. Nur an einer einzelnen Samenprobe bestand eine negative Beziehung zwischen Atmung und Befruchtungsfähigkeit.

- - - - -

Eine Übersicht des Schrifttums zeigt, daß die überwiegende Mehrzahl der Autoren zu folgendem Ergebnis kommt:

Sowohl die Glykose als auch die Atmung der Bullenspermien ist abhängig von der absoluten Spermienkonzentration und der Konzentration der lebenden Spermien.

Die Bestimmung des Fruktoseverbrauchs und der Atmungsintensität ist unter gewissen Voraussetzungen durchaus dazu geeignet, die Befruchtungsfähigkeit des Bullenspermas vorauszusagen.

III. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methodik

In zwei Versuchsserien wurden insgesamt 49 Ejakulate von 8-Alt-Bullen einer bayerischen Besamungsstation untersucht. Die erste Versuchsserie erfolgte in der Zeit vom 10.9.1956 bis zum 30.10.1956, die zweite vom 2.8.1957 bis zum 27.9.1957. Jedes Ejakulat wurde unmittelbar nach der Samengewinnung an der Station untersucht auf

- a) Menge,
- b) Dichte und Ph,
- c) Massenbewegung,
- d) prozentuale Vorwärtsbewegung, Ortsbewegung und Unbeweglichkeit des Spermas.

Zu der sich anschließenden Verdünnung bei etwa 20°C wurde jeweils Spermasol A der Fa. Mack-Illertissen mit Antibiotika-Schere und 20 % Eidotterzusatz verwendet. Die Verdünnungsgrade lagen wechselnd zwischen 1 : 4 und 1 : 12, da die Samenmenge, die Spermiedichte und die Konzentration lebender Spermien schwankten und in der Regel eine Mindestkonzentration von 200 000 Spermien pro mm^3 im verdünnten Samen angestrebt wurde. Danach wurden jeweils 10 cm^3 einer Samenprobe in Samengläschen gebracht, gekennzeichnet und in einem Eydam-Gefäß bei einer Temperatur von $0 - 1^{\circ}\text{C}$ transportiert, ganz entsprechend den Samenproben, die zur künstlichen Besamung verwendet wurden. Von jedem Ejakulat wurde außerdem mit Hilfe einer Auszählpipette 1/100 ml des unverdünnten Samens entnommen und 1 : 100 mit Aqua dest. verdünnt, gut durchmischt, um die Dichte des Spermas durch Auszählen in der Bürker'schen Zählkammer bestimmen zu können. Sämtliche Versuche wurden 90 bis 120 Minuten nach der Samengewinnung begonnen. Zur Bestimmung des Atmungskoeffizienten der Spermien wurde die manometrische Methode mit dem Warburg-Apparat benutzt. Der O_2 -Verbrauch, der als ein Maß für die Stoffwechselintensität gilt, ist mit dem Warburg-Apparat verhältnismäßig leicht zu ermitteln: In einem dicht abgeschlossenen System wird die bei der Atmung der Spermien freiwerdende Kohlensäure durch eine Alkalilösung absorbiert, wodurch der Sauerstoffverbrauch manometrisch gemessen werden kann.

Für eine Samenprobe wurden jeweils drei Reaktionsgefäße des Warburg-Apparates mit je 3 ccm des verdünnten Samens beschickt. Als Alkalilösung wurde immer

0,2 ccm N-NaOH verwendet und die Oberfläche der Lauge durch ein Filterpapierföhnchen vergrößert. Bei jedem Versuch liefen zwei Reaktionsgefäße ohne Sperma als Kontrollen mit, um die evtl. auftretenden Luftdruckschwankungen, die sich während des Versuches einstellen, mit berücksichtigen zu können.

Daraufhin wurden die Reaktionsgefäße mit den dazugehörigen Manometern in Verbindung gebracht und in das auf 38° C erwärmte Wasserbad der Thermostatanne verbracht und bei einer konstanten Frequenz von 80 pro Minute geschüttelt. Während der ersten Viertelstunde wurden die Manometerhähne offen gelassen und nach Ablauf dieser Zeit die Manometer auf 150 mm Brodie eingestellt, die stattgehabten Korrekturen vermerkt und die Manometerhähne geschlossen. Nun erfolgten in regelmäßigen Abständen von 15 Minuten die Ableesungen bis zur 90. Minute. Der Durchschnittswert der beiden Kontrollmanometer wurde bei der Berechnung der Differenz zwischen Ausgangswert (150 mm Brodie) und abgelesenem Wert der einzelnen Reaktionsgefäße mit berücksichtigt.

Der O₂-Verbrauch der Spermien wurde nun nach folgender Formel berechnet:

$$X = \frac{h \left(V_G \cdot \frac{273}{P_0} + V_F \cdot a \right)}{P_0}, \quad \text{wobei } X = \text{O}_2\text{-Verbrauch in mm}^3,$$

h = korrigierter Differenzwert,
V_G = Gasvol. des Reakt.Gef.
T = 273 + 38 = 311, P₀, Normaldruck in Brodie = 10 000

Dabei wurde der Faktor (V_F x a), d.h. Volumen der Flüssigkeit mal dem Bunsenschen Absorptionskoeffizienten außer acht gelassen, da dieser Wert sehr klein ist.

Mit obestehender Formel wurde also der O₂-Verbrauch des eingebrachten Spermas berechnet. Um die einzelnen Samenproben vergleichen zu können, wurden sämtliche Werte auf 10⁹ Spermien bezogen nach der Formel

$$E = \frac{X \cdot 10^9}{S},$$

wobei E = O₂-Verbrauch von 10⁹ Spermien,

X = wirklicher Verbrauch in Manometer,

S = Anzahl der Spermien in einem Reaktionsgefäß, die sich aus Dichte x 3(ml) ergibt.
Endverdünnung

Während der Versuchszeit wurde von jeder Samenprobe eine Lebendfärbung mit

Eosinlösung gemacht und der prozentuale Anteil der lebenden und toten Spermien abgeschätzt. Die Vorwärts- und Ortsbewegung der Spermien im verdünnten Samen wurde ebenfalls mikroskopisch untersucht und die geschätzten Werte vermerkt.

2. Versuchsergebnisse

Die nach den oben angegebenen Formeln logarithmisch berechneten Atmungskoeffizienten der einzelnen Samenproben und die Durchschnittswerte der verschiedenen Bullen sind in der Tabelle I dargestellt.

Aus der Tabelle I und den entsprechenden Kurven ist zu ersehen, daß sowohl die Atmungskoeffizienten der verschiedenen Bullen unter sich, als auch diejenigen der einzelnen Bullen z.T. erheblichen Schwankungen unterliegen. Die Durchschnittswerte sind jeweils in blauer Farbe gezeichnet und lassen bedeutende Unterschiede zwischen den verschiedenen Bullen erkennen. So hat beispielsweise das Sperma des Bullen III eine rund $2 \frac{1}{2}$ mal größere durchschnittliche Atmungsintensität als das Sperma des Bullen V.

Im folgenden wird überprüft, ob und inwieweit eine Beziehung besteht zwischen dem Atmungskoeffizienten und

- a) der absoluten Spermienkonzentration,
- b) der Konzentration der beweglichen Spermien.

Die entsprechenden Daten sind in der Tabelle I dargestellt. Da jedoch, wie früher beschrieben, eine gewisse Mindestkonzentration der Samenproben angestrebt wurde, können hier nur verhältnismäßig kurze Konzentrationsspannen erfaßt werden. Aus den nachfolgenden graphischen Darstellungen ist ersichtlich, daß sowohl die absolute Spermienkonzentration wie die Konzentration der beweglichen Spermien eine Beziehung zum Atmungskoeffizienten zeigt, wobei allerdings erhebliche individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Samenproben auffallen. Im allgemeinen aber kann gesagt werden, daß höhere Spermienkonzentrationen zwar absolut mehr Sauerstoff benötigen als niedrige Konzentrationen, jedoch steigt der Sauerstoffbedarf pro 10⁹ Spermien nicht linear mit der Spermienkonzentration. Höhere Spermienkonzentrationen haben im Verhältnis zu niedrigeren einen relativ kleineren Atmungskoeffizienten.

Vergleicht man jedoch die Atmung mit der Konzentration der beweglichen Spermien, so findet man ein annähernd lineares Verhältnis zwischen beiden Kriterien.

den Samen, von denen die Proben auf Atmung und andere Kriterien untersucht worden sind, wurden Besamungen durchgeführt. Die Befruchtungsfähigkeit des Samens wurde nach dem 90-Tage "Non-return"-Verfahren gemessen und konnte der Besamungsstation in Erfahrung gebracht werden. Die folgende Tabelle II zeigt die in diesem Zusammenhang interessierenden Daten aus der I. Versuchsserie.

Tabelle II

Reihe	Datum	O ₂ -Verbrauch nach 90'	Zahl der Besamung	Zahl der um- rind. Tiere	Erstbes.
I	13.9.56	183,4	36	11	69,4
	1.10.56	172,0	33	15	54,5
II	20.9.56	142,1	66	21	68,2
	24.9.56	229,9	51	15	70,6
	1.10.56	210,2	67	27	59,7
III	5.10.56	217,4	50	15	70,0
	12.10.56	163,2	36	8	77,8
	16.10.56	212,7	46	10	78,3
IV	13.9.56	126,3	25	13	48,0
	17.9.56	107,2	37	17	54,1
	20.9.56	244,9	36	13	66,7
V	10.9.56	117,5	41	10	75,6
	4.10.56	123,9	57	38	33,3
VI	25.9.56	132,3	32	11	65,6
	9.10.56	64,9	24	10	58,4
VII	10.9.56	136,8	51	18	64,7
	17.9.56	82,2	65	12	81,5
	27.9.56	93,5	71	19	73,2
	4.10.56	119,2	51	16	68,6
VIII	25.9.56	177,1	57	17	70,2
	5.10.56	179,1	53	24	54,7
	9.11.56	153,8	44	15	65,9
Summe		154,1			65,5

Die Tabelle III soll die durchschnittliche Atmungsintensität und die "Non-return"-Ergebnisse der einzelnen Monate aus Versuchsserie 1 und 2 darstellen.

Tabelle III

Bulle	September 56	Oktober 56	August 57	September 57
I	183,4 = $\frac{307:208}{67,7\%}$	172,0 = $\frac{380:252}{66,3\%}$	208,8 = $\frac{398:271}{68,1\%}$	149,4 = $\frac{337:210}{62,3\%}$
II	186,0 = $\frac{462:303}{65,8\%}$	210,2 = $\frac{589:364}{61,8\%}$	105,2 = $\frac{262:160}{61,1\%}$	149,6 = $\frac{363:221}{60,9\%}$
III	- -	197,8 = $\frac{389:248}{63,8\%}$	199,3 = $\frac{291:203}{69,7\%}$	- -
IV	159,5 = $\frac{334:201}{60,2\%}$	- -	136,9 = $\frac{248:153}{61,7\%}$	- -
V	117,5 = $\frac{345:216}{62,6\%}$	123,9 = $\frac{459:248}{54,5\%}$	- -	62,8 = $\frac{163:93}{57,1\%}$
VI	132,3 = $\frac{150:107}{71,3\%}$	64,9 = $\frac{203:147}{72,4\%}$	142,5 = $\frac{305:190}{62,3\%}$	115,3 = $\frac{232:153}{65,9\%}$
VII	104,2 = $\frac{487:350}{71,9\%}$	119,2 = $\frac{477:266}{55,8\%}$	136,7 = $\frac{274:190}{69,3\%}$	- -
VIII	177,1 = $\frac{345:234}{67,8\%}$	166,5 = $\frac{375:231}{61,6\%}$	157,9 = $\frac{333:229}{68,7\%}$	- -

Im folgenden Teil der Arbeit sollen nun noch die durchschnittlichen Atmungskoeffizienten mit den durchschnittlichen "Non-return"-Ergebnissen aus allen Proben der verschiedenen Bullen verglichen werden. Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß die O_2 -Werte auch im Durchschnitt erheblich variieren. In der Tabelle IV sind nochmals die entsprechenden Werte der verschiedenen Bullen zusammen mit den "Non-return"-Ergebnissen dargestellt.

Tabelle IV

Bulle	O_2 -Verbr. 15'	O_2 -Verbr. 90'	Non-return
I	39,3	168,7	64,83 %
II	39,2	157,1	62,75 %
III	44,0	198,5	66,75 %
IV	38,5	148,2	60,95 %
V	22,2	82,1	57,85 %
VI	39,1	118,8	66,68 %
VII	32,0	120,3	68,48 %
VIII	36,1	164,0	66,18 %
Gesamt-Ø	36,3	144,7	64,28 %
=====			

Aus Tabelle IV und den folgenden Zeichnungen ist zu entnehmen, daß gewisse positive Beziehungen bestehen zwischen den zu vergleichenden Daten. Obgleich keine linearen Zusammenhänge zwischen dem O_2 -Verbrauch und den "Non-return"-Ergebnissen gegeben sind, können doch folgernde Feststellungen gemacht werden.

1. Diejenigen Bullen, deren Spermaproben durchschnittliche Atmungskoeffizienten hatten, wichen auch in der Befruchtungsfähigkeit nicht wesentlich vom Durchschnitt aller Bullen ab;
2. Bullen, deren Spermaproben vom durchschnittlichen O_2 -Bedarf erheblich abweichende Werte ergaben, variierten auch in der "Non-return" im Vergleich zum Durchschnitt. Jedoch die Bullen VI und VII zeigten bessere Befruchtungsergebnisse, als auf Grund der Atmungsintensität zu erwarten war. Dagegen waren beim Bullen IV die Befruchtungsergebnisse nicht so gut, wie sie nach der Atmungsintensität hätten erwartet werden können.
3. Der Bulle III mit den besten Atmungskoeffizienten hatte einen entsprechend hohen "Non-return"-Wert. Der Bulle V mit dem absolut kleinsten Atmungskoeffizienten hatte auch die schlechteste Befruchtungsfähigkeit.

IV. Diskussion

Nach einem Überblick über die Literatur und nach den eigenen Versuchsergebnissen kann gesagt werden, daß die Bestimmung des Atmungskoeffizienten des Bullenspermas als eine geeignete Methode zur Ermittlung der Spermaqualität und zum Abschätzen der Befruchtungsfähigkeit gelten kann. Die Bestimmung des Atmungskoeffizienten mit Hilfe des Warburg-Apparates ist verhältnismäßig einfach, es müssen jedoch auch andere Kriterien der Spermagütebeurteilung berücksichtigt werden.

Um zu einem vollkommen klaren Bild der tatsächlichen Beziehungen zwischen den Atmungskoeffizienten und der Befruchtungsfähigkeit zu kommen, wäre, wie bei anderen biologischen Arbeiten, ein entsprechend großes Untersuchungsmaterial wünschenswert. Es müßten sämtliche Ejakulate eines Bullen für eine längere Zeitspanne untersucht werden, so z.B. sechs Monate oder besser ein Jahr lang, um auch gewisse jahreszeitliche Unterschiede mitberücksichtigen zu können. Ferner wäre anzustreben, daß möglichst viele Bullen dem Test unterzogen würden.

Die Zeit zwischen Samengewinnung und Versuchsbeginn müßte bei allen Samenproben gleich lang sein, was bei den vorliegenden Versuchen aus technischen Gründen nur annähernd erreicht werden konnte, da an manchen Versuchstagen 2 oder mehr Ejakulate untersucht wurden.

Es wurden Vergleiche angestellt zwischen den Spermienkonzentrationen, die an der Besamungsstation mit Hilfe des Spermioidensimeters ermittelt wurden und denjenigen Konzentrationen, die das Auszählen in der Bürker'schen Zählkammer³ ergab. Dabei konnten bei Konzentrationen bis zu 2 000 000 Spermien pro mm Differenzen bis zu 3 - 4 % auftreten. Höhere Konzentrationen (relativ selten) ergaben z.T. Differenzen bis zu 8 %.

Die Bestimmung der prozentualen Anteile von Vorwärts- und Ortsbewegung ist eine subjektive. Zur exakteren Differenzierung von lebenden und toten Spermien wurde daher außerdem die Eosin-Lebendfärbung durchgeführt.

Bei der Warburg-Methode traten auch gewisse Unterschiede in der Atmungsintensität innerhalb der drei jeweils parallel laufenden Reaktionsgefäße auf. War jedoch bei einem Gefäß eine gewisse Differenzschwelle überschritten (mehr als 3 %), so wurde der betreffende Wert nicht berücksichtigt, abstreifend ebensowenig solche Werte, von denen anzunehmen war, daß sie

irgend einem unglücklichen Zufall beim Abfüllen der Reaktionsgefäße oder beim Ingangsetzen des Apparates zuzuschreiben sind. Was jedoch die z.T. unterschiedlichen Atmungswerte der verschiedenen Samenproben der verschiedenen Bullen und der Samenprobe der einzelnen Bullen anbetrifft, so kann gesagt werden, daß auch die reichhaltige Literatur immer wieder auf ähnliche Beobachtungen hinweist.

6. Betrachtet man die "Non-return"-Ergebnisse für sich, so ist doch zu bedenken, daß die Befruchtungserfolge außer von der Spermaqualität auch noch von einer ganzen Anzahl wichtiger Kriterien abhängig sind. Es wird hingewiesen auf den richtigen Zeitpunkt der Besamung, an die Besamungstechnik und den Gesundheitszustand des besamten Tieres. Doch ist anzunehmen, daß diese Fehlerquellen bei der Bestimmung der "Non-return"-Ergebnisse sich auf sämtliche Bullen gleichermaßen verteilen, so daß in diesem Zusammenhang die Spermaqualität bzw. der Atmungskoeffizient des Spermas in direkte Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit gebracht werden darf.

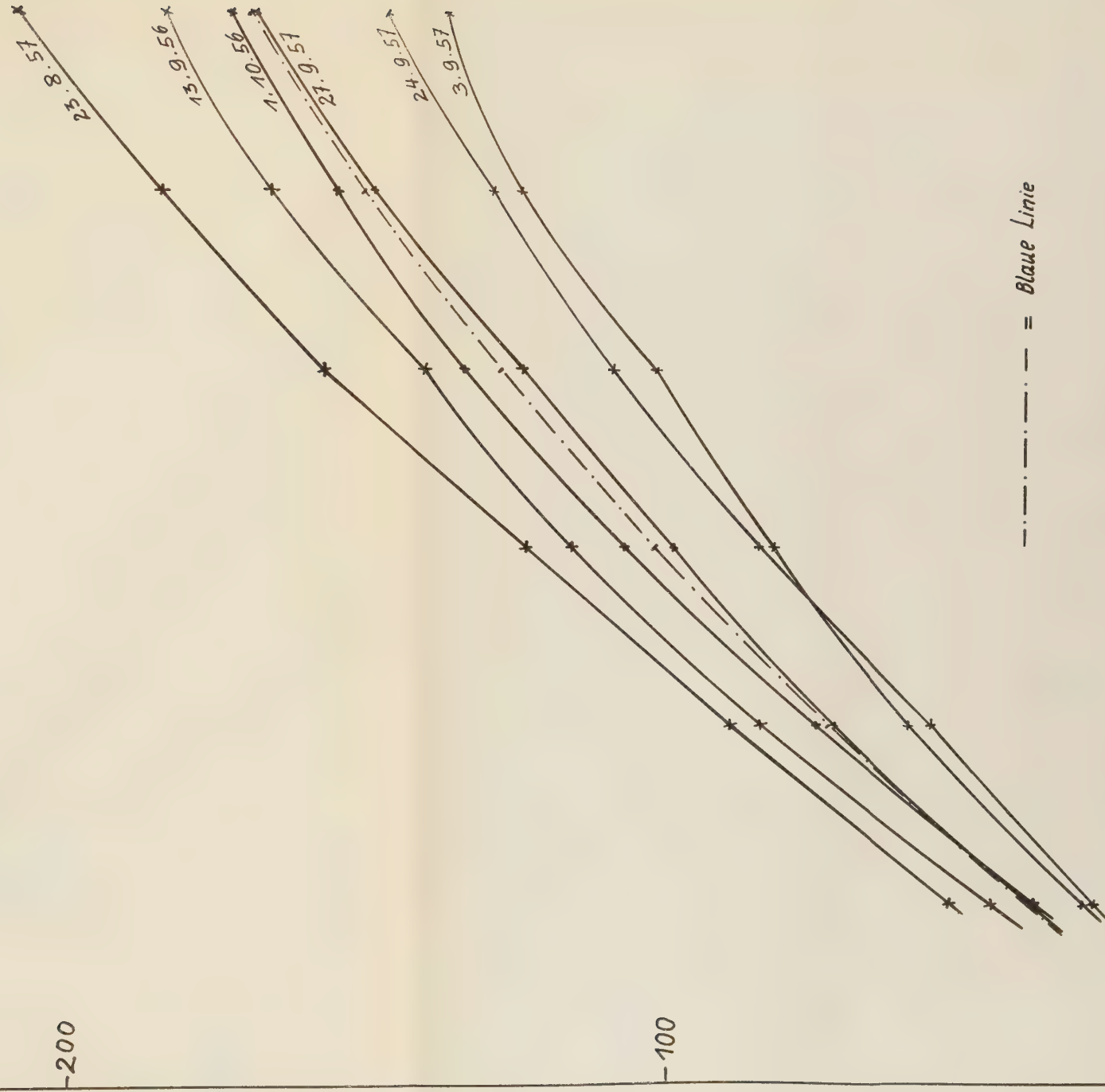
abelle I

Alle	Datum	15.Min.	30.Min.	45.Min.	60.Min.	75.Min.	90.Min.	**	Zahl d.Spermien / 3ml	% bew.Sp.	Zahl d.bew.Spermien
	13.9.56	46,1	84,1	115,7	140,5	165,8	183,4	282,1	0,5333x10 ⁹	65	0,34665x10 ⁹
	1.10.56	38,7	75,4	107,4	133,9	154,2	172,0	229,3	0,5400	75	0,40500
	23.8.57	52,6	88,8	123,7	157,4	183,1	208,8	261,0	0,5440	80	0,43520
3.49	3.9.57	30,3	59,5	81,7	101,2	118,5	132,5	176,6	0,5333	75	0,39998
	24.9.57	29,9	55,2	83,5	108,0	127,4	146,9	183,6	0,5368	80	0,42944
	27.9.57	37,9	73,6	97,5	123,3	148,1	168,8	225,1	0,5151	75	0,38633
	Ø	39,3					168,7	224,9	0,5338	75,0	0,40043
	20.9.56	39,1	68,7	94,7	111,3	130,3	142,1	189,4	0,4024	75	0,30180
	24.9.56	54,3	97,7	135,5	168,4	198,5	229,9	328,4	0,6554	70	0,45878
I.	1.10.56	51,9	82,5	128,4	154,7	182,8	210,2	280,2	0,7040	75	0,52800
	12.8.57	21,9	36,5	47,4	56,1	64,5	72,6	80,6	1,3080	90	1,17720
4.49	26.8.57	41,0	69,6	90,5	110,4	127,5	137,9	197,0	0,5375	70	0,37625
	2.9.57	26,9	53,8	82,4	104,2	126,0	148,6	199,4	0,6006	75	0,45045
	Ø	39,2					157,1	207,2	0,7013	75,8	0,54875
	5.10.56	41,3	80,2	115,6	152,1	188,4	217,4	310,5	0,7385	70	0,51695
	12.10.56	37,6	67,7	97,7	120,3	142,8	163,2	233,1	0,5235	70	0,36645
II.	16.10.56	44,3	83,6	121,1	153,8	184,0	212,7	303,8	0,8914	70	0,62398
	2.8.57	47,3	87,0	131,2	168,7	205,1	239,8	299,7	0,6523	80	0,52184
0.51	13.8.57	54,2	98,8	139,5	169,4	198,2	220,7	275,8	0,6021	80	0,48168
	20.8.57	39,3	68,4	90,8	109,5	124,9	137,3	171,6	0,5571	80	0,44568
	Ø	44,0					198,5	264,6	0,6608	75,0	0,49276
	13.9.56	39,7	66,6	85,8	105,2	116,0	126,3	180,4	0,5625	70	0,39375
	17.9.56	30,0	48,5	71,4	83,3	95,2	107,2	164,9	0,4320	65	0,28080
IV.	20.9.56	55,1	107,3	150,9	187,1	219,0	244,9	326,6	0,3750	75	0,28125
	2.8.57	32,6	56,9	75,9	91,8	106,2	123,7	164,9	0,4344	75	0,32580
4.52	6.8.57	32,7	58,8	79,7	97,9	113,8	126,3	157,8	0,5340	80	0,42720
	9.8.57	40,8	74,6	100,0	124,9	141,8	160,6	200,7	0,8100	80	0,64800
	Ø	38,5					148,2	199,7	0,5247	74,2	0,39280
	10.9.56	32,4	62,8	79,0	91,2	100,1	117,5	167,8	0,5220	70	0,36540
	4.10.56	34,7	64,8	87,0	104,1	116,5	123,9	190,6	0,9658	65	0,62777
	10.9.57	22,1	42,0	55,8	65,5	73,2	81,9	136,5	0,6640	60	0,39840
	17.9.57	17,9	26,9	37,2	42,7	50,3	56,5	80,7	0,5156	70	0,36092
0.51	24.9.57	11,7	20,0	26,8	31,0	34,7	38,4	128,0	1,0541	30	0,31623
	27.9.57	14,5	32,4	45,5	50,6	63,4	74,4	186,0	0,4887	40	0,19548
	Ø	22,2					82,1	147,1	0,7017	55,8	0,37736
	25.9.56	43,4	67,9	90,2	104,5	104,8	132,3	189,0	0,5057	70	0,35399
	9.10.56	23,5	28,1	38,2	48,8	58,1	64,9	99,8	0,5294	65	0,34411
I.	20.8.57	45,4	80,1	101,2	119,5	134,0	147,6	196,8	0,5100	75	0,38250
	27.8.57	43,7	70,8	91,3	108,6	123,4	137,4	183,2	0,4133	75	0,30998
5.50	3.9.57	39,5	61,5	77,1	91,1	102,7	115,0	191,6	0,5850	60	0,35100
	6.9.57	39,0	62,3	75,8	91,6	105,9	115,6	165,1	0,4526	70	0,31682
	Ø	39,1					118,8	171,6	0,4993	69,2	0,34307
	10.9.56	29,7	61,4	81,2	99,0	118,8	136,8	195,4	0,5533	70	0,38731
	17.9.56	26,3	39,4	52,7	63,7	70,1	82,2	126,4	0,7040	65	0,45760
II.	27.9.56	27,7	48,0	58,6	69,9	82,3	93,5	133,5	0,6800	70	0,47600
	4.10.56	37,2	65,5	83,9	97,8	109,3	119,2	170,2	0,7480	70	0,52360
2.50	2.8.57	31,5	53,8	77,0	98,0	119,1	140,2	200,2	0,5378	70	0,37646
	6.8.57	37,9	67,3	92,3	114,2	133,6	149,3	186,6	0,5670	80	0,45360
	9.8.57	33,6	61,4	78,3	94,6	107,1	120,6	160,8	0,7360	75	0,55200
	Ø	32,0					120,3	168,4	0,6466	71,4	0,46094
	25.9.56	44,6	76,7	104,5	131,3	153,4	177,1	253,0	0,7163	70	0,50141
	5.10.56	39,6	75,0	108,7	133,5	159,1	179,1	275,5	0,7000	65	0,45500
III.	9.10.56	34,2	64,8	90,1	113,3	135,4	153,8	219,7	0,6834	70	0,47838
	13.8.57	35,6	63,8	90,8	107,4	132,0	144,1	160,1	0,6713	90	0,60417
2,50	23.8.57	46,4	83,4	120,7	160,8	191,7	214,4	238,2	0,5659	90	0,50931
	27.8.57	28,4	49,9	68,8	85,1	103,2	115,3	144,1	0,5856	80	0,46936
	Ø	36,1					164,0	211,6	0,6539	77,5	0,50293

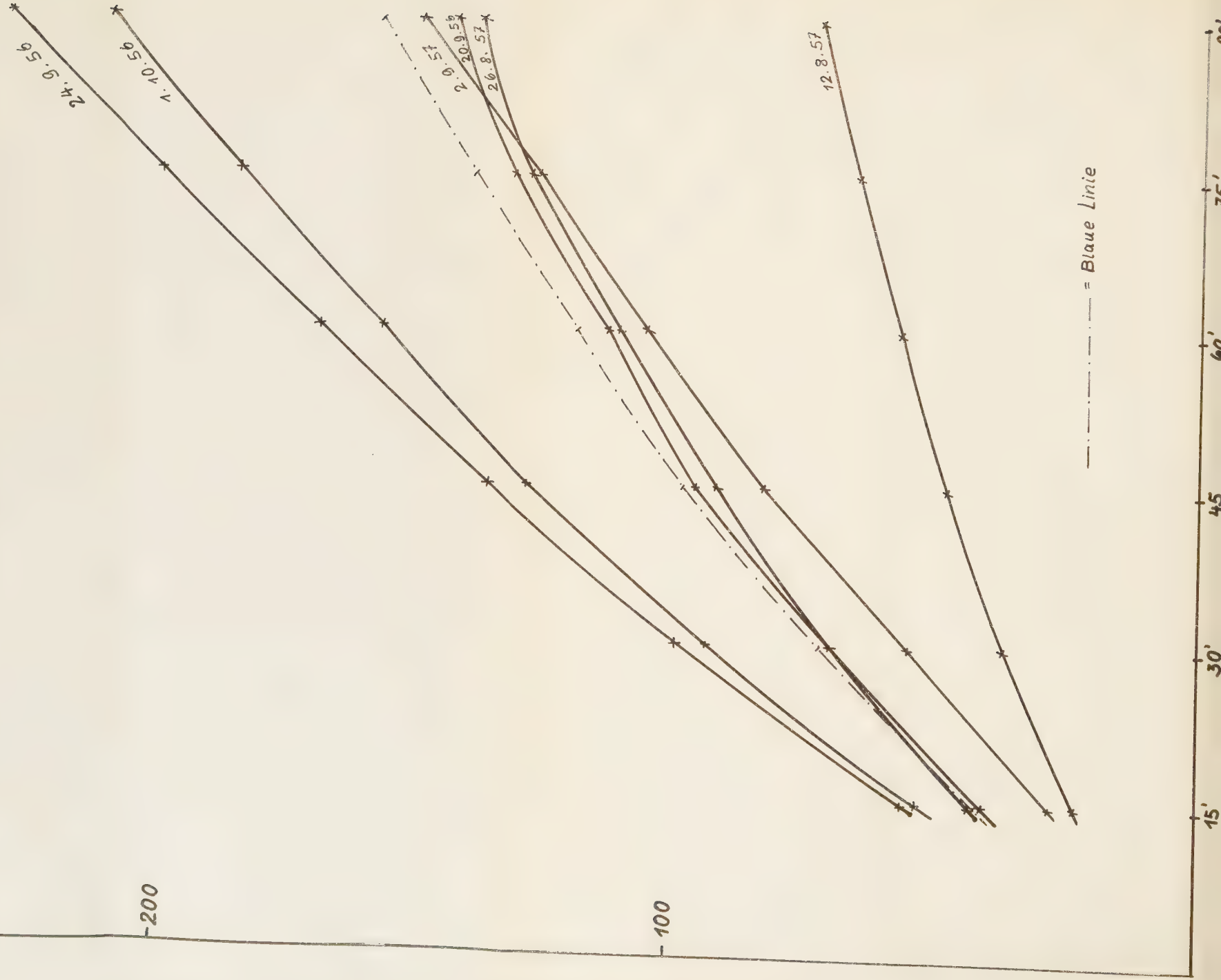
* sind die auf die Zahl der beweglichen Spermien bezogenen Atmungskoeffizienten

mm³
O₂

Bulle I

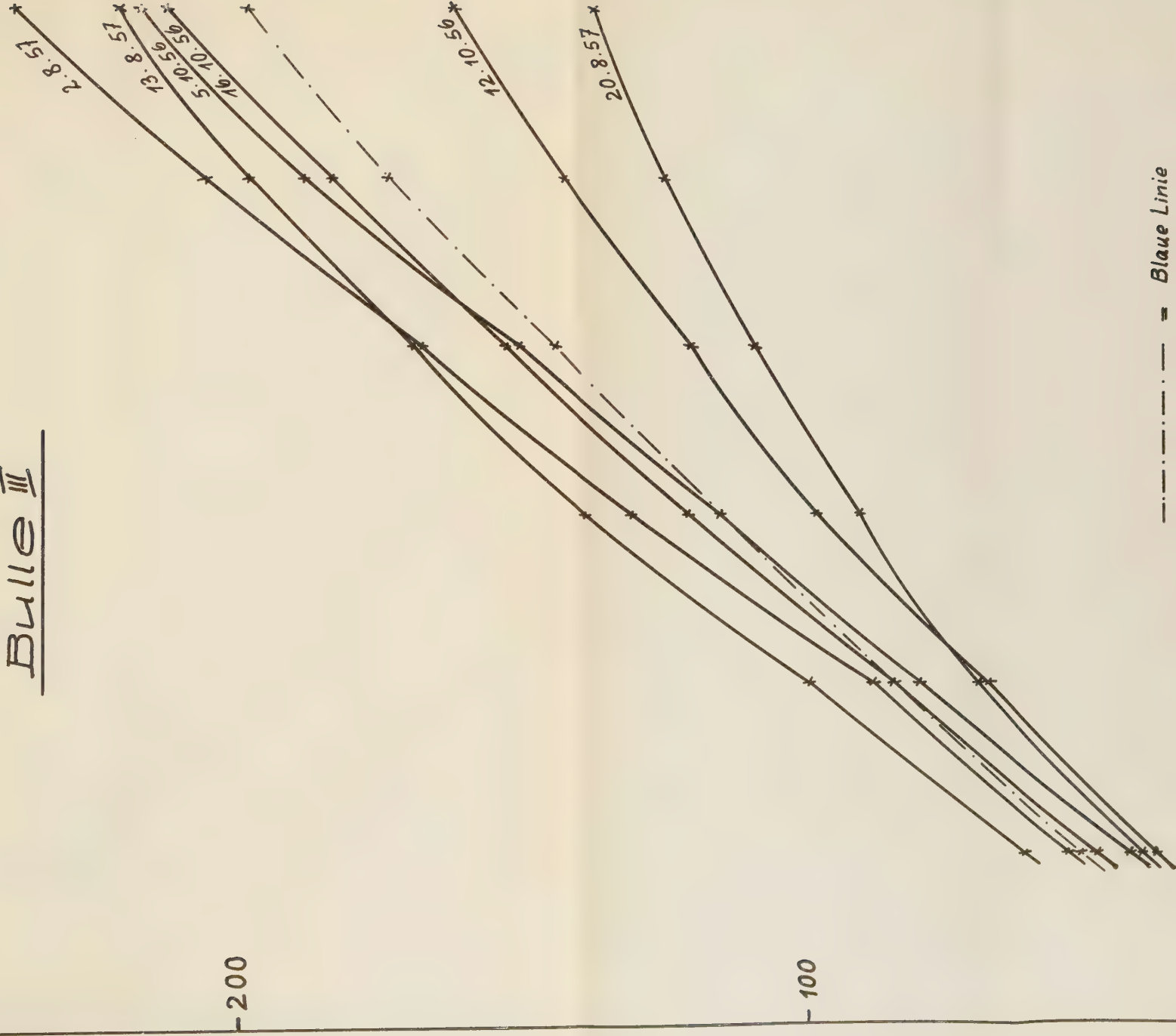


Bulle II

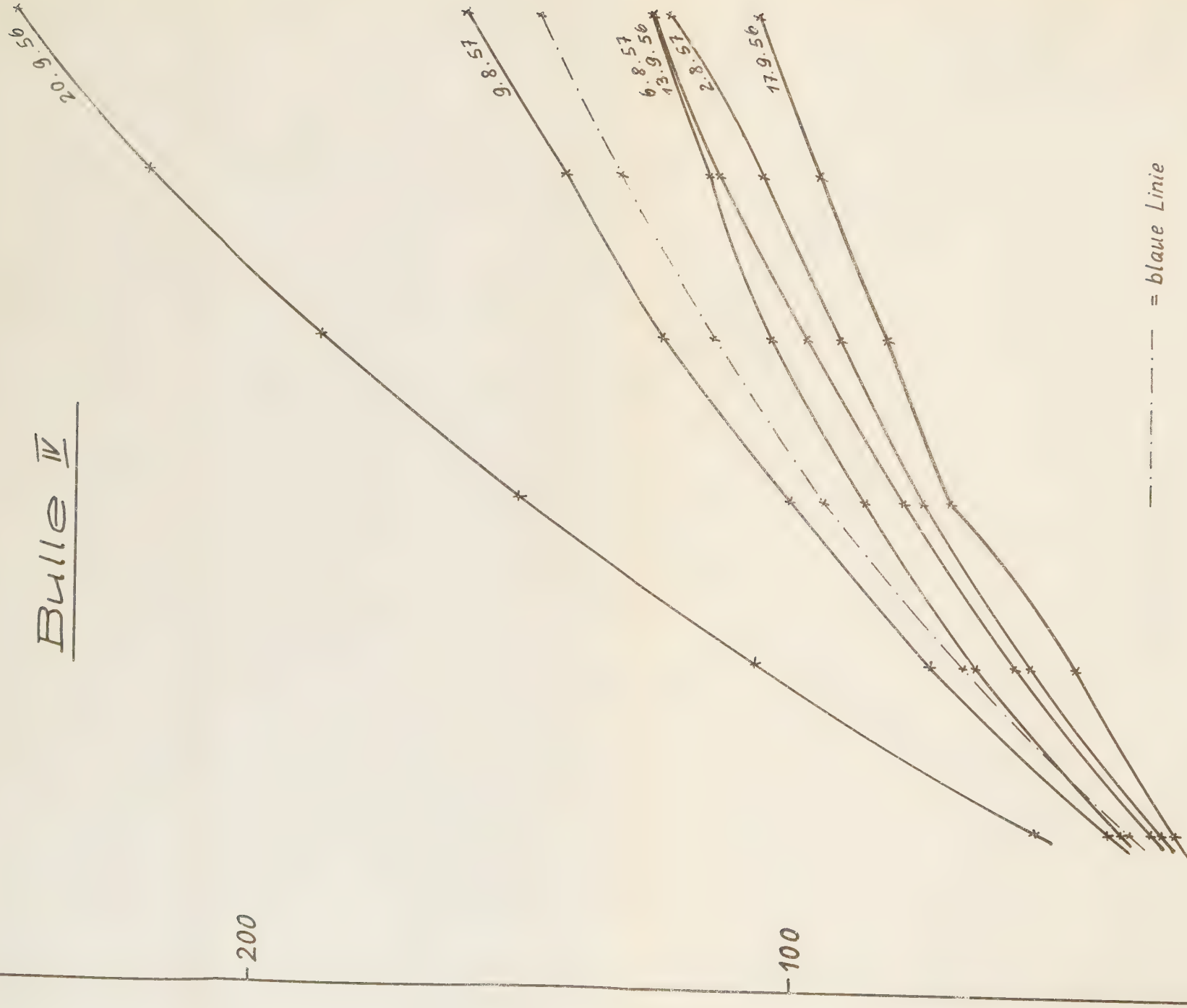


mm³
O₂

Bulle III



Bulle IV

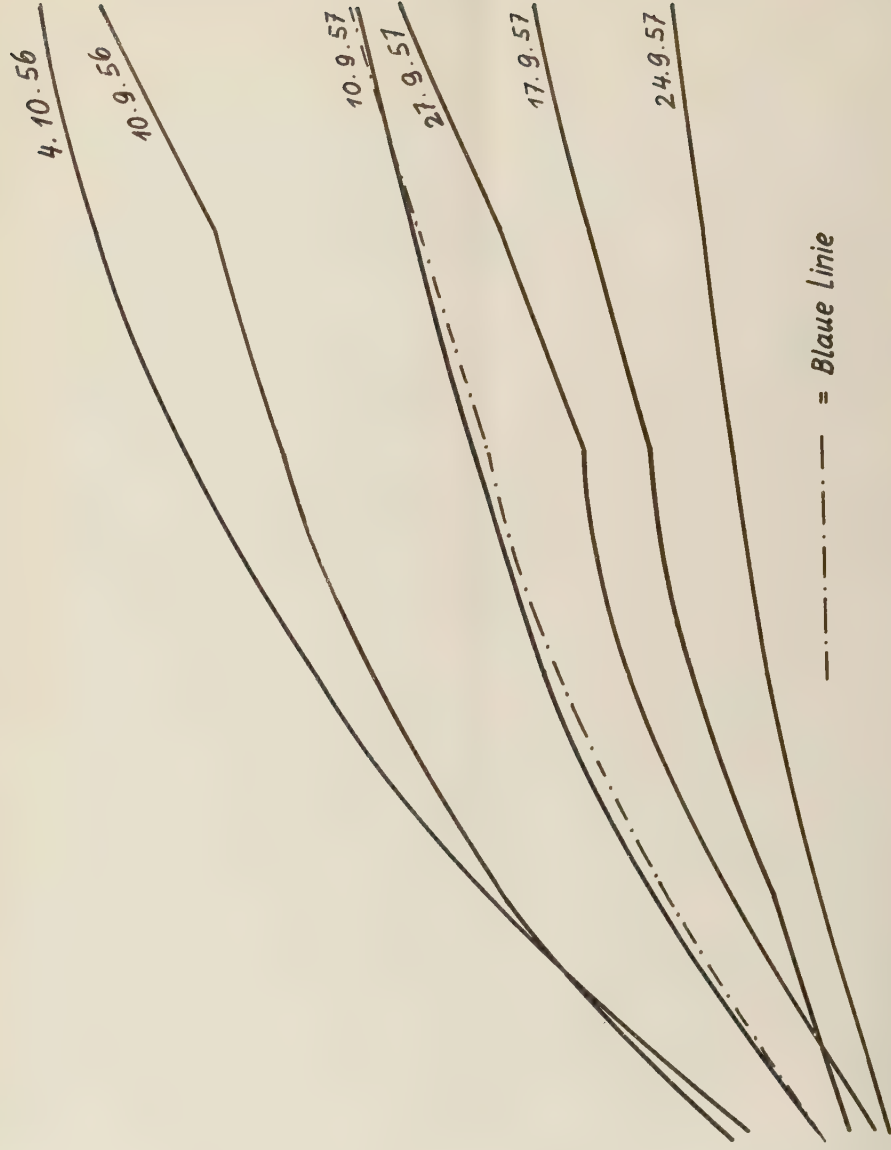


mm³
O₂

Bulle V

-200

-100



Bulle VI

-200

-100

20. 8. 57

27. 8. 57

25. 9. 56

6. 9. 57

3. 9. 57

9. 10. 56

--- = Blaue Linie

15'

30'

45'

60'

75'

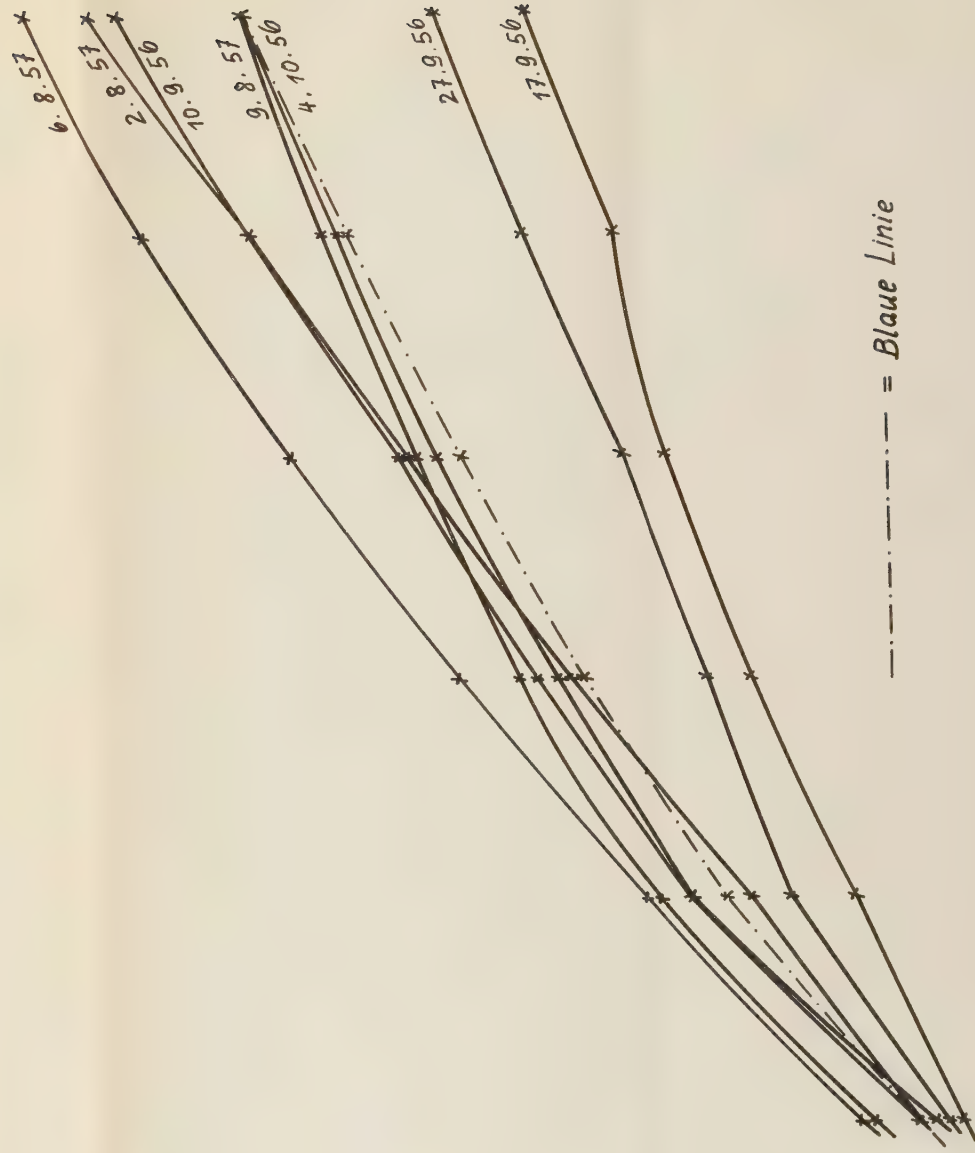
90'

mm³
O₂

Bulle VII

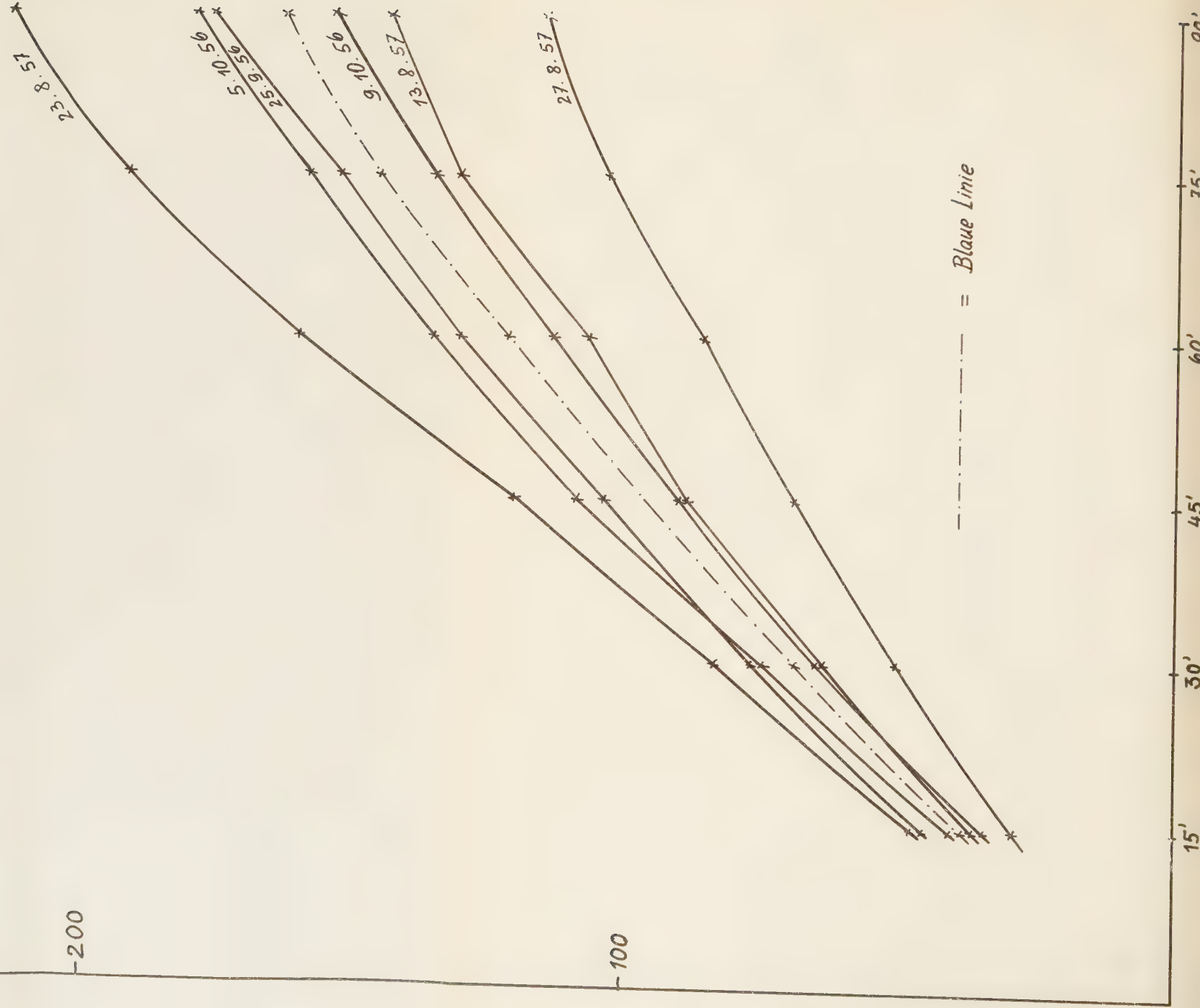
-200

-100



----- = Blaue Linie

Bulle VIII



mm
O₂

300

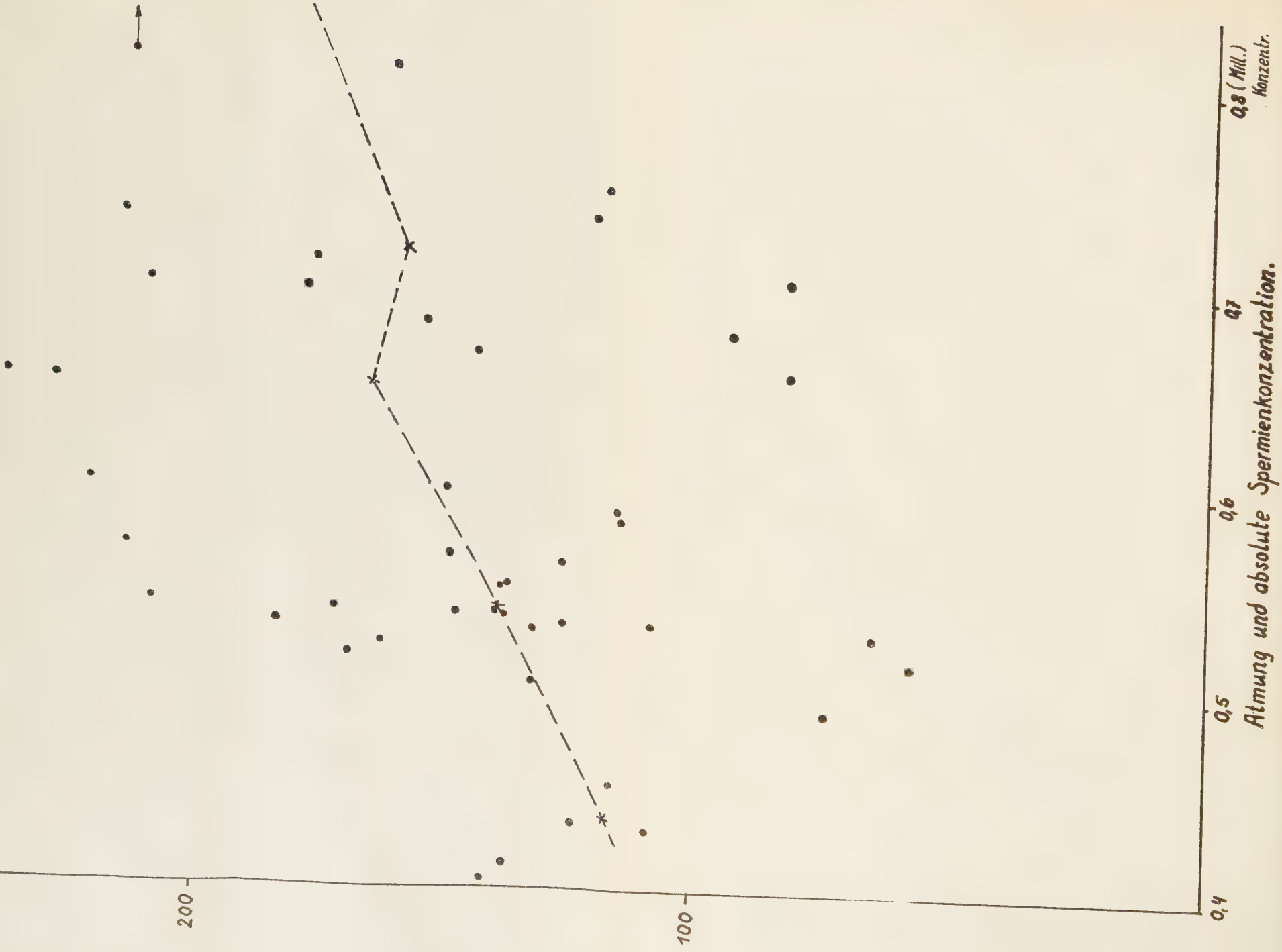
250

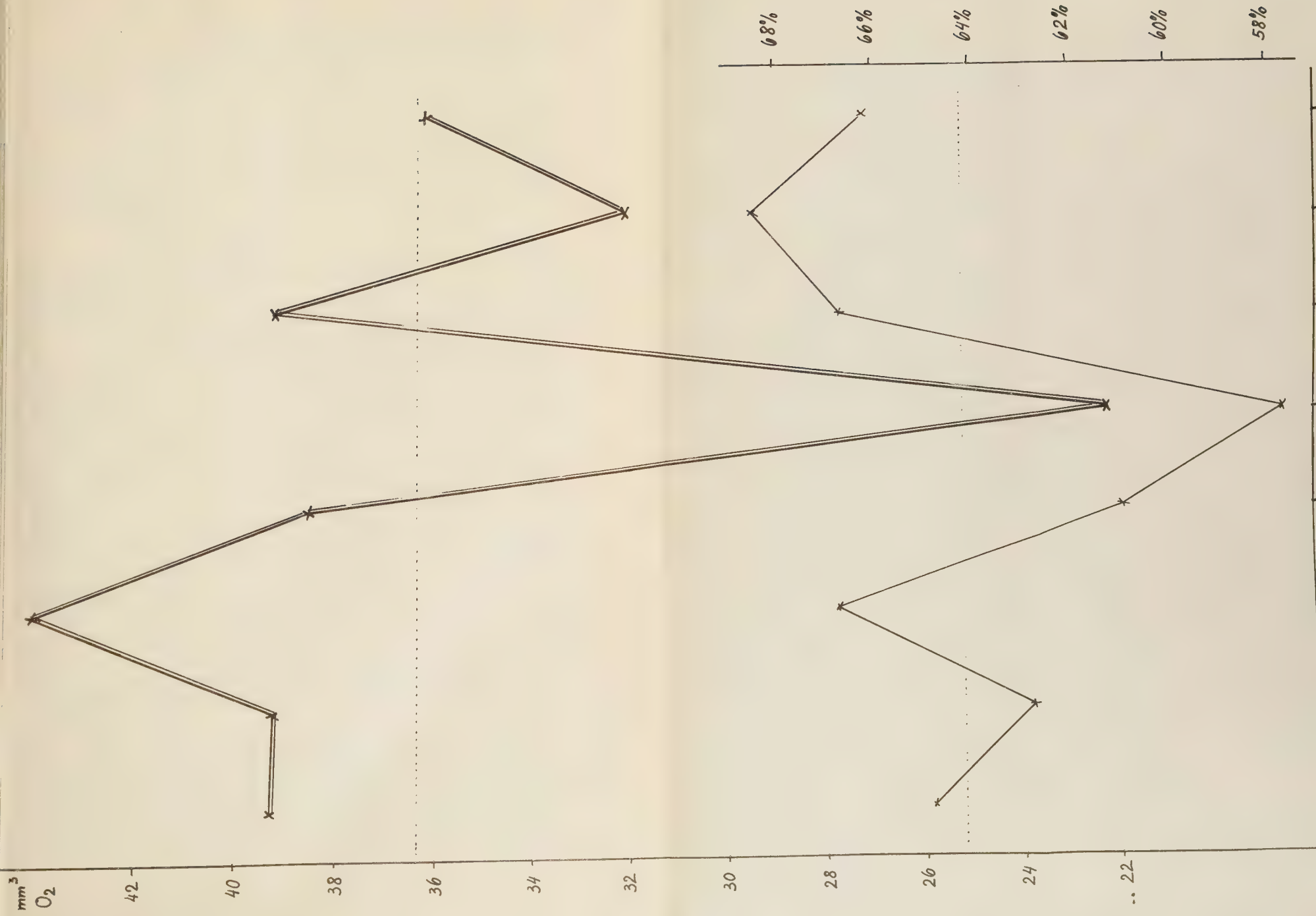
200

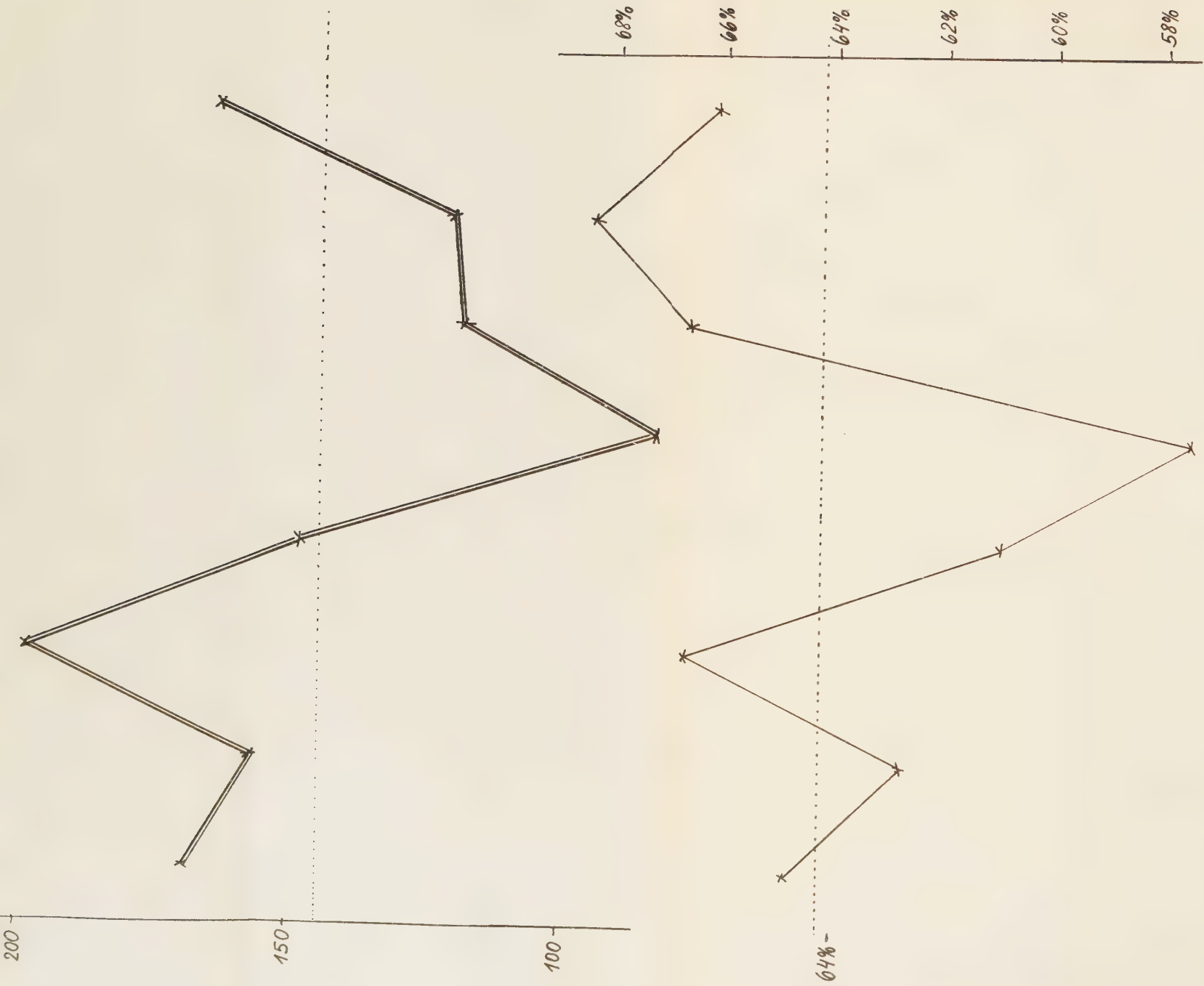
150

100









Die 90-Minuten-Atmungswerte // und Non-return

1. Adalo
2. Bernit
3. Hauser
4. Harro
5. Helmut
6. Planer
7. Postmeister
8. Professor

V. Zusammenfassung

- Es wurden 49 Ejakulate von 8 Bullen (im Alter von 5 1/2 bis 8 1/2 Jahren) einer bayerischen Besamungsstation nach folgenden Gesichtspunkten untersucht:
 - a) Menge,
 - b) Dichte und Ph-Wert,
 - c) Massenbewegung,
 - d) prozentuale Vorwärts- und Ortsbewegung,
 - e) Atmungsintensität.
- Mit diesen Ejakulaten wurden in wechselnder Verdünnung von 1 : 4 bis 1 : 12, wobei eine Mindestkonzentration von 200 000 Spermien pro mm angestrebt wurde, Besamungen durchgeführt und die "Non-return"-Ergebnisse verfolgt.
- Mit Hilfe des Warburg-Apparates wurden bei 38° C die Atmungskoeffizienten dieser verdünnten Spermaproben bestimmt.
- Beim Vergleich der Atmungskoeffizienten der verschiedenen Spermaproben konnte festgestellt werden:
 - a) daß sowohl die Atmungskoeffizienten von Samenproben der verschiedenen Bullen unter sich als auch diejenigen von Samenproben der einzelnen Bullen z.T. erheblich variieren. Auch die Durchschnittswerte der einzelnen Bullen zeigen unter sich erhebliche Unterschiede.
 - b) Sowohl die absolute Spermienkonzentration (weniger deutlich) als auch die Konzentration der beweglichen Spermien (deutlicher) stehen in positiver Beziehung zum Atmungskoeffizienten, wobei große individuelle Unterschiede der einzelnen Samenproben auffallen. Hohe Spermienkonzentrationen haben im Verhältnis zu niedrigeren einen relativ kleinen O_2 -Verbrauch.
- Im Durchschnitt steigt mit zunehmendem Atmungskoeffizienten auch die Befruchtungsfähigkeit, gleichgültig, ob man vom Durchschnitt aller Einzelproben von sämtlichen Bullen oder vom monatlichen Durchschnitt aller oder der einzelnen Bullen ausgeht, wobei wiederum erhebliche individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Samenproben auffallen.

6. Obgleich zwar keine linearen Beziehungen zwischen dem O_2 -Verbrauch und den Befruchtungsergebnissen ("Non-return") in Erscheinung treten, ist festzustellen, daß Samenproben mit einem Atmungskoeffizienten von weniger als $100 \text{ mm } O_2$ pro 90 Min. in der Regel eine unter dem Durchschnitt liegende Befruchtungsquote haben, Samenproben mit einem Atmungskoeffizienten von $100 - 150 \text{ mm}$ etwa durchschnittliche "Non-return"-Ergebnisse, und höhere Atmungskoeffizienten überdurchschnittliche "Non-return"-Ergebnisse erwarten lassen.

7. Die Untersuchungen lassen letztlich folgende Schlußfolgerung zu:

Die Bestimmung des Atmungskoeffizienten kann als ein geeignetes Verfahren zur Spermagütebeurteilung und zum Abschätzen der Befruchtungsfähigkeit herangezogen werden. Das Verfahren kann jedoch nur dann vollkommen befriedigen, wenn möglichst viele Samenproben eines Bullen untersucht werden. Aus Einzelproben läßt sich nicht mit Zuverlässigkeit die Befruchtungsfähigkeit vorhersagen. Doch läßt sich in jedem Fall wenigstens annähernd genau die durch die Intensität der Atmung gemessene Vitalität des Bullenspermas auch in Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit bringen.

Literaturverzeichnis

- Anderson, I.:
The sugar content of bull semen and its reduction during storage.
I. agric. Sci. 36, 260-262
- Anderson, H.W. und
Seath, D.M.:
Effect of delay in diluting and cooling on keeping quality of bull semen.
J.D. Sci. 31, 551 - 555
- Anderson, I.:
A note on fructolysis and other characteristics in bull semen.
Brit. vet. J. 107, 435-437
- Bishop, M.W.H.,
Campbell, R.C. und
Hancock, I.L.:
Semen characteristics and fertility in the bull
I. Agric. Sci. 44, 227-248
- Bishop, M.W.H. und
Hancock, I.L.:
The evaluation of bull semen.
Vet. Record 67, 20 : 363
- Bishop, M.W.H. und
Salisbury, G.W.:
The effect of semen dilution with a yolk-containing extender on the oxygen-uptake and motility of bull spermatozoa.
J.D. Sci. 38, 202-207.
- Blackshaw, A.W.,
Salisbury, G.W. und
Van Demark, N.L.:
Factors influencing metabolic activity of bull spermatozoa.
I.D. Sci. 40, 1093-1105
- Bondadonna, T., Berg, E.,
Olgiati, L. und
Pozzi, G.:
Osservazioni preliminary sul contenuto in fruttosio sulla fruttolisi della sperma di "Bos Taurus" e sulle correlazioni von la fecondita.
Zootec. e. Veter. N. 3, 70-82
- Branton, C.,
Arensbourg, S. und
Johnston, E.:
Semen production, fructose content of semen and fertility of dairy bulls as related to sexual excitement.
J.D.Sci. 35, 801-807.

10. Branton, C. und
Frather, W.: Metabolic responses of bovine spermatozoa
to antibacterial agents.
J.D.Sci. 37, 228-234
11. Branton, C., Kellgreen, H.C. The importance of numbers of spermatozoa in
und Patrick, T.E.: relation to semen quality and fertility of
dairy bulls.
J.D.Sci. 36, 1301-1307
12. Branton, C., James, C.B., The relationship between certain semen qual-
Patrick, T.E. und ty tests and fertility and the interrelatio-
Newsom, M.H.: hip of these tests.
J.D.Sci. 34, 310-316
13. Bratton, R.W., Foote, R.H., The relative usefulness of combinations of
Henderson, C.R., laboratory tests for predicting the fertili-
Musgrave, S.D., ty of bovine semen.
Dunbar, R.S., Dunn, H.D. J.D.Sci. 39, 1542-1549
und Beardsley, I.P.:
14. Bratton, R.W., The relationship between fertility and the
Foote, R.H. und number of spermatozoa inseminated.
Henderson, C.R.: J.D.Sci. 37, 1353-1356
15. Brochard, M.: L'influence de l'adrénaline et de la nor-
adrénaline sur la glycolyse et la respira-
tion des spermatozoïdes de taureau.
Bull. Soc. chim. biol. (Paris) 33: 1777-1792
16. Buckner, J.P. und Laboratory tests, singly and in combination
Willet, E.L.: for evaluating fertility of semen and of bu
J.D.Sci. 37, 1050 - 1060
17. Corrias, A.: Die Befruchtungsfähigkeit und der Methylenb-
Reduktionstest beim Bullensperma.
Zootec. e. vet. 6, 48 - 58.
18. Cummings, I.N.: Testing fertility in bulls.
Techn. Bull. 212, 1954
19. Ehlers, M.H., Initial levels of fructose and citric acid
Flerchinger, F.H. und in bull semen as related to fertility.
Erb, R.E.: J.D.Sci. 36, 1020 - 1026

- Erb, R.E. und Ehlers, M.H.: Resazurin reducing time as an indicator of bovine semen fertilizing capacity. J.D.Sci. 33, 853-864.
- Erb, R.E., Ehlers, M.H. und Flerchinger, F.H.: Modified resazurinreduction test for estimating fertilizing capacity of bull semen. J.D.Sci. 35, 881-888
- Erb, R.E., Flerchinger, F.H., Ehlers, M.H. und Gassner, F.X.: Metabolism of bovine semen: II. Fructolysis relationship with Sperm concentration and fertility. J.D.Sci. 39, 326-338
- Erb, R.E., Flerchinger, F.H., Mikota, L.E. und Ehlers, M.H.: Metabolism of bull semen. III. Relation of lactic acid and its accumulation during incubation with other semen quality measurements and non-return. J.D.Sci. 39, 1006-1014
- Fiser, J.: Redukeija methylenblau - a und razredenoj spermi bika. Vet. Glasn. 8, 610.
- Flipse, R.J.: Metabolism of bovine semen. I. Uptake of glucose C¹⁴ by bovine spermatozoa. J.D.Sci. 37, 425-430
- Flipse, R.J. und Almquist, J.O.: Metabolism of semen. Qualitative anaerobic Katabolism of glucose C¹⁴ by bovine spermatozoa. J.D. Sci. 38, 782-787
- Gassner, F.X., Hill, H.J. und Sulzberger, L.: Relationship of seminal fructose to testis function in the domestic animals. Fertil. u. Steril. 3, 121-140
- Gosh, D., Casida, L.E. und Lardy, H.A.: A study of the metabolic activity of bull semen and spermatozoa in relation to their fertilizing ability. I. Anim. Sci. 8, 265-270.
- Hopwood, M.L., Rutherford, E.R. und Gassner, F.X.: The concept of fructose utilization by bull sperm and its relation to fertility. J.D.Sci. 39, 51-59

30. Kaemmerer, K.: Die Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid durch Spermien.
Mh.f.pr.Tierhik. Bd.3, H.4: 228-234
31. Mann, T.: Studies on the metabolism of semen.
3. Fructose as a normal constituent of seminal plasma. Site of formation and function of fructose in semen.
Biochem.J. 40, 481-491
32. Mann, T.: Fructose content and fructolysis in semen. Practical application in the evaluation of semen quality.
J.agric.Sci. 38, 323-331.
33. Mann, Th.: Über die Biochemie des Samens.
Zit. Zuchthyg., Bd.1, 138-150
34. Mann, T. und
Lutwak-Mann, C.: Studies on the metabolism of semen.
4. Aerobic and anaerobic utilization of fructose by spermatozoa and seminal vesicles.
Biochem.J. 43, 266-270
35. Magsood, M.: In vitro effects of thyroxine on oxygen consumption of mammalian spermatozoa.
Abstr.Comm.18th int.physiol.Congr.1950
36. Melrose, D.: Evaluation of semen quality by the fructose utilization test.
Brit.vet.J.V.108, N. 7, 260-268
37. Milovanov, V.: The oxidation-reduction regime during the preservation of the spermatozoa of farm animals outside the organism.
Zit. Vet. Bull. 18, 437.
38. Mixner, I.P.: Vital studies on bull semen using T.T.C.
J.D.Sci. 32, 1013-1015
39. Mixner, I.P.,
Mather, R.E. und
Freund, M.: Bovine semen metabolism. I. Methods for expressing fructolytic activity.
J.D.Sci. 40, 142-148.

- Plaut, G. und
Lardy, H.: Metabolism of ejaculated bull spermatozoa with particular reference to the glycolysis of maltose. Amer. J. Physiol. 162, 598-602.
- Reid, J.,
Salisbury, R., Ward, G.
und Leonardi, G.: Studies of oxidative mechanism in bull semen. J.D.Sci. 30, 547-548
- Reid, J., Ward, G.
und Salisbury, R.: The relationship of the change in Ph effected by incubation to other semen characteristics. J.D.Sci. 31, 383-388.
- Romijn, C.: Egg yolk and metabolism of bull semen. Tijdschr. v. Diergeneesk. 75, 95-109.
- Eoy, A., Bhattacharya, S.,
Luktuke, S.N. und
Bhattacharya, P.: Studies on the reducing substances of semen. II u. III. Curr. Sci. 19, 50-53
- Salsbury, G.W.: The glycolysis, livability and fertility of bovine spermatozoa as influenced by their concentration. Zit. Anim.breed.abstr. 1946; 252
- Schindler, H.: Evaluation of factors affecting the fertility of bull semen by means of the methylene-blue reduction time. Zit. Anim.breed.abstr. 1957, 384
- Schmidt, K.: Die Methylenblaureduktion als Test zur Ermittlung der Fruchtbarkeit von Bullensperma. Mh.Vet.Med. 10, 228-239
- Schmidt, K. und
Steger, H.: Die Beziehungen zwischen Fruktolyse im Bullensperma und der Fruchtbarkeit beim Rind. Zuchthygiene Bd. 1, 95-105
- Schultze, A.B. und
Davis, H.P.: Effect of thyroxine on oxygen consumption of bovine spermatozoa and semen. J.D.Sci. 31, 946-950

50. Schultze, A.B. und
Davis, H.P.:

Effect of thyroxine on fertility of
bovine semen.

J.D.Sci. 32, 322-326

51. Schultze, A.B. und
Mahler, D.:

The effect of sodium arsenite on the respiration of bovine semen and the relation of this response to the fertilizing ability of semen. J.D.Sci. 35, 906-909.

52. Shergin, N.P.:

The respiration of spermatozoa.

Zit. Vet.Bull. 1948, S. 516.

53. Totic, I. und
Walton, A.:

Formation of H_2O_2 by spermatozoa and its inhibitory effect on respiration.

Nature 158: 485.

54. Totic, I. und
Walton, A.:

Effect of egg-yolk and its constituents on the respiration and fertilizing capacity of spermatozoa.

I.agric.Sci. 37, 69-76.

55. Totic, I. und
Walton, A.:

Metabolism of spermatozoa, The formation and elimination of H_2O_2 by spermatozoa and effects on motility and survival.

Biochem. J. 47, 199-212.

56. Van Demark, N.L.,
Mercier, E. und
Salisbury, G.:

The methylene-blue reduction test and its relation to other measures of quality in semen. J.D.Sci. 28, 121-128

57. Van Demark, N.L.,
Salisbury, G. und
Bratton, R.:

Oxygen damage to bull spermatozoa and its prevention by catalase.

J.D.Sci. 32, 353-360

58. Van Demark, N.L.,
Bratton, R.W. und
Foote, R.H.:

The fertility of bovine semen in citrate-yolk extenders containing added catalase.

J.D.Sci. 33, 661-665

59. White, I.G.:

Metabolic studies of washed and diluted ram and bull spermatozoa.

Austr.I.biol.Sci. 6, 706-715.

Am Schluß meiner Arbeit fühle ich mich veranlaßt, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. B a i e r für die freundliche Überlassung des Themas meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ebenso gebührt Herrn Dr. habil. W. L e i d l und Herrn Dr. H a e g e r für ihre stete Hilfsbereitschaft mein aufrichtigster Dank.

L e b e n s l a u f

Ich wurde am 22.7.1932 in Degenfeld, Kreis Schwäbisch Gmünd, als Sohn des Gast- und Landwirts Paul Aubele und seiner Ehefrau Pauline, Geb. Nagel, geboren.

Nach vier Klassen Volksschule besuchte ich die Oberschule in Waiblingen bei Stuttgart, wo ich im Frühjahr 1952 die Reifeprüfung mit Erfolg ablegte.

Das Studium der Veterinärmedizin begann ich im Wintersemester 1952/53 und legte meine tierärztliche Prüfung im Juli 1957 an dieser Fakultät ab.

